



TITLE:

植物内在性dsRNAによる全身性の 免疫系活性化効果とその応用(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

羽者家, 宝

CITATION:

羽者家, 宝. 植物内在性dsRNAによる全身性の免疫系活性化効果とその
応用. 京都大学, 2019, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2019-11-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22135>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	羽者家 宝
論文題目	植物内在性 dsRNA による全身性の免疫系活性化効果とその応用		
(論文内容の要旨)			
<p>自然免疫応答は、二本鎖 RNA (double-stranded RNA: dsRNA) をはじめとする病原体関連分子パターンを melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) や Toll-like receptor 3 (TLR3) などのセンサー分子が認識することで誘導される。その結果、インターフェロン (interferon: IFN) 応答を活性化し、ウイルス増殖を抑制する。先行研究では米糠に存在するウイルス由来 dsRNA を抽出し、経鼻投与することで免疫系を活性化し、呼吸器系ウイルス感染阻害効果が見られることが示されている。本研究では、ピーマンからウイルス由来 dsRNA を抽出し、自然免疫系活性化作用とその応用について検討した。</p> <p>まず、京鈴という品種のピーマンから核酸を抽出し、ウイルス由来の長鎖 dsRNA が存在することを確認した。この京鈴由来 dsRNA (KS-RNA) をマウスに経鼻投与したところ、肺だけでなく、脾臓や肝臓においても IFN 応答が認められた。これにより、KS-RNA は全身性の自然免疫系活性化効果を有することが明らかとなった。加えて、KS-RNA 投与による自然免疫系活性化作用は米糠由来 dsRNA と同様に用量依存性を示し、TLR3 経路を介することを明らかにした。</p> <p>次に、精製度を上げた KS-RNA (KS-dsRNA) を用いて抗ウイルス効果を検討した。H1N1 A 型インフルエンザウイルス (influenza A virus: IAV) 感染前日及び翌日に KS-dsRNA を経鼻投与した結果、対照群は 7 頭全頭死亡したのに対し、KS-dsRNA 投与群は 6 頭中全頭生存した。また、強毒株として知られている H5N1 IAV 感染実験では、対照群は 8 頭全滅したのに対し、KS-dsRNA 投与群では 7 頭中 2 頭生存した。更に、KS-dsRNA 経鼻投与により、脳心筋炎ウイルス経口感染時の対照群は 4 頭中 1 頭しか生存しなかったのに対して、投与群では 4 頭中 4 頭が生存した。KS-dsRNA の経鼻投与がウイルスの腹腔感染に対して抗ウイルス効果を示したことから、全身性の抗ウイルス効果が示唆された。直接的な抗ウイルス効果の検討に加え、ワクチンアジュバントとしての応用の可否を抗原感作時に同時に KS-dsRNA を投与した後、H5N1 を感染させる実験で検討した。H5N1 不活化抗原、KS-dsRNA 及びその両方をマウスに経鼻投与した 14 日後に H5N1 IAV を感染させた結果、H5N1 抗原単体投与では H5N1 感染後 7 頭中 3 頭生存であったが、KS-dsRNA を同時に投与することにより、生存率が 100%に上昇した。</p> <p>KS-dsRNA には抗ウイルス効果が見られたが、I 型 IFN 投与が多発性硬化症 (MS) の治療に用いられることから、MS モデルマウスに対する KS-dsRNA の治療効果を検討した。KS-dsRNA 投与は発症や病態の進行を遅延させる傾向が見られたものの、有意差を示すまでには至らなかった。</p> <p>更に、家畜への応用を考慮し、ニワトリ及びブタにおける KS-dsRNA 経鼻投与 24 時間後の MDA5 の mRNA 発現を測定したところ、ブタの全血及び肺ではそれぞれ対照群に対し 6.33 倍と 248.8 倍に増加し、ニワトリの全血中では 1.94 倍に増加した。</p> <p>以上のことから、ピーマンには dsRNA が存在し、全身性の自然免疫系活性化効果、抗ウイルス効果、ワクチンのアジュバント効果を持つこと、ピーマン dsRNA の多発性硬化症への応用の可能性、更には家畜の免疫賦活への応用の可能性が示唆された。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

二本鎖RNA (dsRNA : double-stranded RNA) は自然免疫系を活性化する構造として広く知られている。EndornavirusはdsRNAゲノムを有する米やピーマンに存在するウイルスである。米糠からこのdsRNAを抽出し、マウスへ投与することで自然免疫系活性化効果や抗呼吸器感染効果を示すことを既に申請者の所属する研究室が報告している。申請者は、ピーマンに存在するendornavirusのdsRNAに注目し、3種類のウイルス感染に対する抗ウイルス効果やワクチンアジュバント作用及び自己免疫疾患への応用について検討した。まず、ピーマンからのウイルスゲノムdsRNAの抽出方法を確立し、そのdsRNAを細胞にトランスフェクションすることで自然免疫系活性化作用が生じることを示した。この抽出法により得たdsRNAを用いて *in vivo* の実験を実施した。マウスへのピーマン内在性dsRNA投与により自然免疫系活性化作用を検討した結果、用量依存的に免疫応答が活性化されることが示された。また、興味深いことに、投与から遠位の臓器においても免疫応答が活性化されることを明らかにした。この全身性の免疫応答は、dsRNA投与により産生されたサイトカインが血流に乗り、遠方の臓器の免疫系も活性化していると申請者は考察している。ピーマン内在性dsRNAが自然免疫系活性化効果を持つことが示されたことから、抗ウイルス効果の有無を検討した。このdsRNAはH1N1インフルエンザウイルス (IAV) 感染に対する防御作用だけでなく、強毒株であるH5N1 IAVに対する感染防御効果も有することを明らかにした。更に、脳心筋炎ウイルス感染実験により、投与部位以外の組織でも抗ウイルス効果が得られることを示した。申請者は直接的な抗ウイルス効果に加え、ウイルスに対する別のアプローチとしてワクチンアジュバントとしての応用効果について検討した。その結果、ピーマン内在性dsRNAをアジュバントとして併用投与することでワクチンの作用を増強することを実証した。また、その他の応用方法として多発性硬化症モデルマウスへの応用や家畜への利用の可能性を提示した。しかし、実験系の不安定さにより検証が不十分である効果がある点やdsRNAの動態がいまだ不明な点などが今後の課題である。

以上のように、本論文はピーマンに存在するdsRNAの抽出方法を確立し、自然免疫系活性化効果やその他の応用効果について実証した。本論文では生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されていた。よって、本論文は博士 (生命科学) の学位論文としての評価基準を満たすものと判断した。さらに、令和元年10月18日に行われた論文公聴会とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日